

Title	Complete absence of Cockayne syndrome group B gene product gives rise to UV-sensitive syndrome but not Cockayne syndrome
Author(s)	堀端, 克良
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45458">https://hdl.handle.net/11094/45458</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	ほり ばた かつ よし 堀 端 克 良
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 19257 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Complete absence of Cockayne syndrome group B gene product gives rise to UV-sensitive syndrome but not Cockayne syndrome (コケイン症候群 B 群原因遺伝子産物の完全欠損はコケイン症候群ではなく UV <sup>s</sup> 症候群の原因となる)
論文審査委員	(主査) 教 授 田中亀代次  (副査) 教 授 花岡 文雄 教 授 米田 悦啓

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

「転写と共役した DNA 修復」(transcription-coupled repair ; TCR) 機構は、転写されている DNA 鎖上の損傷を修復し、転写を再開させることのできる重要な遺伝情報維持機構である。TCR 機構を欠損するヒト劣性遺伝疾患としてコケイン症候群 (Cockayne syndrome ; CS) が知られており、CS 患者が重篤な精神神経症状や身体発育異常、さらには、早期老化徴候や日光紫外線高感受性等の多様な症状を示すことから、TCR 機構の重要性が示唆されている。一方、紫外線高感受性症候群 (UV-sensitive syndrome ; UV<sup>s</sup>) は日光に高感受性を示す常染色体劣性遺伝疾患であり、他の日光高感受性を示す疾患である色素性乾皮症 A 群～G 群、V 群、CS-A 群および CS-B 群とは異なる相補性群に属すること、細胞学的には CS 細胞と同様に紫外線損傷の TCR 機構に異常を持つこと、また、CS で見られる重篤な神経症状などは一切見られないことが報告されている。これらのことは UV<sup>s</sup> 原因遺伝子が TCR 機構に関わる新規遺伝子であることを示唆している。そこで、TCR 機構の詳細を知るために UV<sup>s</sup> 原因遺伝子の同定を行った。

#### [方法ならびに成績]

UV<sup>s</sup> 患者細胞である UV<sup>s</sup>KO 細胞に微小核細胞を介したヒト単一染色体移入を行い、紫外線抵抗性回復試験を利用することで UV<sup>s</sup> 原因遺伝子の同定を試みた。その結果、第 10 番染色体を移入したときのみ UV<sup>s</sup>1KO 細胞は紫外線抵抗性を獲得した。このことから、UV<sup>s</sup> 原因遺伝子が第 10 番染色体上に存在することが強く示唆された。CSB 遺伝子座位が第 10 番染色体上に存在すること、UV<sup>s</sup>1KO 細胞と CSB 患者細胞が共通の細胞学的特徴を有することから、UV<sup>s</sup>1KO 細胞の原因遺伝子が CSB 遺伝子と同一である可能性を考え、UV<sup>s</sup>1KO 細胞由来 CSB 遺伝子の cDNA を RT-PCR/DNA sequencing によって解析した。その結果、UV<sup>s</sup>1KO 細胞では CSB 遺伝子にナンセンス変異 (Arg77stop) がホモ接合性に見いだされた。両親はこの突然変異のヘテロ接合体であった。そこで、HA をタグとして付けた CSB 遺伝子の cDNA (HA-CSB) を UV<sup>s</sup>1KO 細胞に導入し解析した結果、HA-CSB 蛋白質を安定に発現する UV<sup>s</sup>1KO 細胞は野生株細胞と同程度の紫外線抵抗性を獲得した。また、UV<sup>s</sup>1KO 細胞では紫外線照射後の RNA 合成は回復しなかったのに対し、HA-CSB 蛋白質を安定に発現する UV<sup>s</sup>1KO 細胞では正常細胞と同様に RNA 合成が回復し紫外線損傷に対する TCR 機構が正常化することを確認した。以上のことから、UV<sup>s</sup> は、CS の徴候を示さな

いにもかかわらず、CSB 遺伝子の突然変異が原因で発症していることが示唆された。両者の突然変異の性質の違いから、変異型 CSB 蛋白質をウェスタンブロットおよび蛍光免疫染色で調べた結果、UV<sup>s</sup>1KO では全く CSB 蛋白質が検出されなかったのに対し、CS-B 細胞では変異型 CSB 蛋白質が核内に存在することが確認された。このことから、CS-B 患者では変異型 CSB 蛋白質が存在するために酸化的 DNA 損傷修復機構、あるいは、転写機構そのものが阻害を受け、CS 徴候が出現するのに対し、UV<sup>s</sup>S 患者では CSB 蛋白質が全く産生されず、従って、酸化的 DNA 損傷修復機構や転写に対する阻害的な効果がないために CS 徴候が出現しないのではないかと考えた。

#### [総括]

これまで、CS の病態や CSB 遺伝子の機能についての多くの報告がなされており、CS の病態が転写の異常によるものなのか、酸化的 DNA 損傷の修復異常によるものなのか等、様々な議論がなされてきた。本研究により、①重篤な臨床症状を示す CS と、紫外線感受性を示すのみでその他の症状を一切示さない UV<sup>s</sup>S が、同一の遺伝子の突然変異により発症すること、②重篤な臨床症状を示す CS-B 細胞では変異型 CSB 蛋白質が核内に存在すること、の二点が明らかとなった。変異型 CSB 蛋白質の転写や TCR 機構に及ぼす影響について言及している報告はこれまで皆無である。本研究で明らかとなった UV<sup>s</sup>S および CS の解析結果は、CSB 遺伝子の機能ドメインの同定、CS ひいては UV<sup>s</sup>S の病態解明に重要な役割を果たすと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

UV<sup>s</sup> 症候群 (UV<sup>s</sup>S) は臨床症状としては日光に高感受性のみを示す劣性遺伝性疾患であり、その原因遺伝子は不明であった。堀端克良君は、染色体移入等により UV<sup>s</sup>S 原因遺伝子の同定を試みた結果、重篤な発育不全、精神神経症状および日光高感受性を示す疾患であるコケイン症候群 B 群 (CS-B) 原因遺伝子 (CSB) と同一であることを示した。また、UV<sup>s</sup>S 細胞では全く CSB 蛋白質が検出されなかったのに対し、CS-B 細胞では変異型 CSB 蛋白質が核内に存在することが示された。このことから、UV<sup>s</sup>S では変異型 CSB 蛋白質の何らかの阻害的な効果がないために CS 症状が出現しないのに対し、CS-B ではその阻害的な効果により発育異常などの CS 症状が出現するのではないかと考えられた。これらの結果は、UV<sup>s</sup>S ならびに CS-B に関して、臨床症状が大きく異なるにも関わらず同一遺伝子が原因となって発症することを示したものであり、それぞれの疾患の病態解明に向けて大きく貢献するものであると考えられる。よって、これらの堀端克良君の研究成果は博士 (医学) の学位授与に値するものである。